

Le metiltrasferasi (DNMT): macchine molecolari che regolano l'espressione genica attraverso meccanismi epigenetici

Fabio Caradonna

Dipartimento di Scienze e Tecnologie Biologiche Chimiche e Farmaceutiche (STEBICEF) - Sezione di Biologia Cellulare - Università di Palermo

E-mail: fabio.caradonna@unipa.it

Sommario. Oggi è noto che un gene si esprime non soltanto in base alla sequenza primaria del suo promotore, ma anche in base alla possibilità che la cromatina locale ha di accogliere fattori di trascrizione trans-agenti. La metilazione della citosina del DNA è uno fra i più studiati meccanismi di rimodellamento della cromatina e quindi di regolazione dell'espressione genica, maggiormente negli eucarioti. Spostare metili, metilare o demetilare opportune sequenze regolatorie dei geni significa regolare la loro espressione genica senza modificare la sequenza del DNA e questo è oggetto di studio dell'Epigenetica, una scienza di nuovo interesse, che riesce a spiegare fenomeni prima non a pieno compresi, insorgenze di alcune patologie e soprattutto, come l'interazione del genoma di una cellula con l'ambiente esterno possa portare a modifiche, talvolta ereditabili, dell'espressione genica. Gli enzimi che spostano metili si chiamano DNA-metiltrasferasi (DNMT) e sono quindi un gruppo di enzimi recentemente studiati proprio perché a loro è deputato il compito di variare il trascrittoma, anche in assenza di variazioni genomiche.

1. Introduzione

Quando Francis Crick nel 1958 enunciò il "*Dogma centrale della biologia molecolare*" credette di annunciare alla comunità scientifica una verità imperturbabile. Ed effettivamente anche oggi, volendo esclusivamente illustrare il flusso di informazioni "semplice" che si instaura in una cellula dal DNA alle proteine, si descrive che il genotipo (DNA) viene trascritto in RNA ed in ultimo tradotto in proteina; e non viceversa. Sappiamo che pochi anni dopo il suo enunciato questo dogma fu sconfessato, nel suo verso di flusso, dalla scoperta dell'enzima di Temin, la trascrittasi inversa, che è in grado di dirigere una sintesi di RNA partendo da uno stampo di DNA. Ma il dogma non passò tranquillamente nemmeno i successivi anni '70 e '80 del secolo scorso in quanto il fenomeno del differenziamento cellulare palesemente dimostrava che uno stesso genoma (DNA) distribuito a diverse cellule, tutte derivanti da un'unica cellula zigotica, era in grado di sintetizzare diversi trascrittomi (RNA) e dunque, per traduzione, dare diverse proteine. Diversa espressione genica da uguali genomi....il dogma vacillava sempre di più. Negli anni '90 un altro scossone provenne dal fenomeno dell'imprinting genomico secondo cui alcuni caratteri per esprimersi devono obbligatoriamente avere una provenienza parentale specifica: materna o paterna ma mai scambievolmente una delle due. In una stessa cellula, c'era dunque un DNA che si esprimeva in RNA e proteine ed un altro DNA, omologo, che pur avendo la sua sequenza nucleotidica priva di mutazioni invalidanti, non sintetizzava alcun RNA e tanto meno proteine. Infine il colpo finale venne nei primi anni 2000 quando si completò il sequenziamento dell'intero genoma umano e si scoprì che i geni umani erano un ordine di grandezza meno di quanti era stato previsto sulla base dei metabolismi di una cellula. Fu chiaro allora che un DNA non necessariamente dirige la sintesi di un

RNA, ma a volte di più tipi di RNA o a volte di nessun tipo; la questione non era più così semplice e lineare come il dogma lo aveva presentato (Fig. 1).

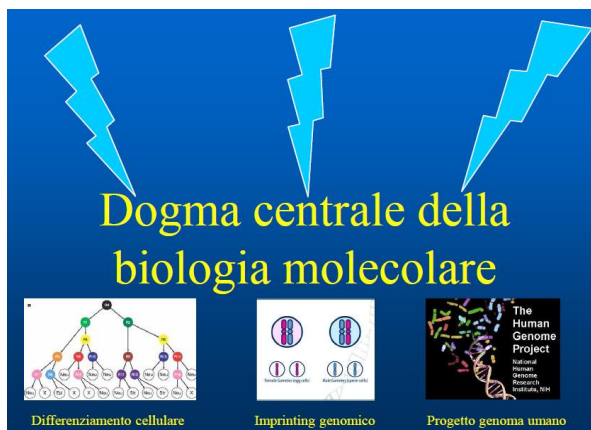


Figura 1. Il dogma centrale della biologia molecolare e i suoi 3 principali punti di crisi

Ma al di là delle considerazioni scientifiche è sotto i nostri occhi il fatto che un genoma, nella sua espressione, venga influenzato da fattori esterni: come spiegare altrimenti i gemelli monoizigoti che sviluppano seppure piccole diversità fra loro pur avendo lo stesso identico genoma? Perché queste diversità, è noto da tempo, si accentuano quando sono separati alla nascita e crescono in ambienti diversi? Il mondo animale ci regala un'altra evidenza di interazione genoma-ambiente con evidentissime differenze fenotipiche conseguenti: una tartaruga può nascere femmina o maschio a seconda se l'uovo da cui scoperà sarà stato esposto al calore del sole, cioè deposto in superficie, oppure esposto ad una temperatura più bassa, cioè deposto in profondità. Uno stesso identico genoma che può dare, a seconda di questa influenza ambientale, un fenotipo sessuale così diverso. Infine, cosa dire di uno stesso genoma, quale quello di un individuo della specie umana che col tempo mostra fenotipi diversi dando, nel complesso, quella condizione che chiamiamo invecchiamento (Fig. 2)?



Figura 2.

A questo punto occorre superare il dogma centrale della biologia molecolare ed invece considerare che esiste l'Epigenetica, secondo la quale possono esistere modificazioni chimiche ed ereditabili della cromatina che non scaturiscono da mutazioni della sequenza nucleotidica del DNA. Una sequenza di DNA eucariotico, complessato con proteine a formare la cromatina e variamente superspiralizzato in essa, ci ricordiamo, è classificabile in eucromatina ed eterocromatina a seconda, rispettivamente, se si tratta di DNA che contiene geni esprimibili oppure DNA non genico. Più in particolare, l'eucromatina viene tenuta dalla cellula in uno stato sufficientemente spiralizzato, al fine di permettere che in questa struttura complessa possano avere accesso i fattori di regolazione della trascrizione. L'eterocromatina, invece, è maggiormente spiralizzata tanto da essere inaccessibile ai fattori di regolazione: il risultato di questa diversa conformazione strutturale è per la cellula motivo di regolazione funzionale in quanto tutti quei geni che si trovano in uno stato di parziale condensazione cromatinica possono, potenzialmente, essere espressi mentre tutti quegli altri che si trovano nell'eterocromatina condensata non potranno mai essere espressi pur non avendo, essi stessi, alcuna mutazione genetica invalidante (Fig. 3).



Figura 3.

Epigeneticamente un genoma può regolare la sua espressione secondo tre grandi meccanismi: la metilazione del DNA, l'acetilazione degli istoni e la codifica di piccoli RNA. Di tutti questi il più importante, per il genoma umano, ed anche il più studiato, è il fenomeno della metilazione del DNA che consiste nell'aggiunta di un gruppo metile in posizione 5 sull'anello pirimidinico della citosina formando la 5-metil-citosina. Gli enzimi responsabili del trasferimento di gruppi metili da donatori endogeni alle citosine del DNA sono le DNA Metiltrasferasi (DNMT) che, a questo punto, rivestono un ruolo assolutamente centrale nell'espressione del genoma avendo in mano anche la reversibilità di una eventuale epimutazione (Fig. 4).

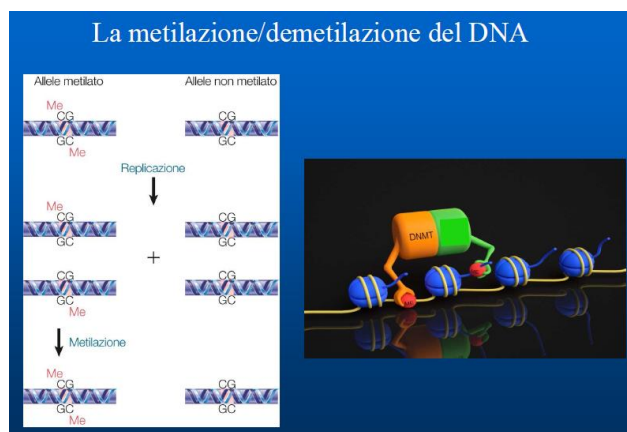


Figura 4.

Oggi, dunque, si è compreso che un DNA può esprimersi sia attraverso un mRNA che parla il linguaggio del codice genetico sia attraverso un nuovo codice, “la conversazione epigenetica” (Fig. 5). Un genoma con la sua sequenza nucleotidica vincola ad alcuni fenotipi ma non ne impone mai uno; può essere paragonato ad uno spartito musicale: a seconda dell’orchestra, dell’acustica e dell’ambiente, con stesse note può generare una diversa musica.

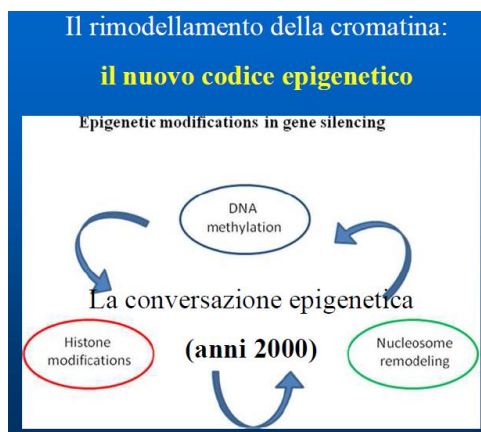


Figura 5.

Compreso appieno l’importanza di studiare a fondo l’epigenetica e di associarla alla configurazione genetica di ogni cellula di un individuo, risulta più semplice rispondere a quei tanti perché che non erano stati del tutto chiariti negli anni precedenti. Perché un gene coinvolto in una traslocazione cromosomica dovrebbe cambiare il modo di esprimersi? E perché da questo evento aberrante la cellula dovrebbe ricavarne un danno visto che non c’è stata alcuna perdita di materiale genetico ma soltanto una sua diversa dislocazione? Ai sensi di quanto appreso noi oggi potremmo dire che una traslocazione oltre che provocare (o essere provocata da) una mutazione, provoca una epimutazione, cioè un cambiamento epigenetico che non comporta un cambiamento della sequenza nucleotidica del DNA. Semplicemente, quel tratto genico o intero gene, cambiando collocazione nel genoma, ha subito il cosiddetto “effetto posizione” transitando, per esempio, da un comparto cromosomico a bassa condensazione cromatinica (eucromatina) ad un altro ad altissima condensazione cromatinica (eterocromatina), evento che non gli consente più di poter essere raggiunto dai fattori di regola-

zione della trascrizione. Una cellula con questa epimutazione, pur disponendo delle informazioni genetiche relative a questo gene, non potrà mai esprimerle e, funzionalmente, si comporta come una cellula che ha subito una delezione cromosomica per quello stesso gene.

Epigeneticamente, oggi, sono molto studiate alcuni tipi di Leucemie, le Leucemie Mieloidi Acute, che hanno la caratteristica di essere, o meno, sensibili alla terapia con agenti demetilanti il DNA (come la 5-azacitidina). Inoltre, l'epigenetica, con una ipotesi lanciata nel 2007 [1], rappresenta una fondamentale strategia diagnostica e terapeutica di parecchie malattie autoimmuni, prime fra tutte, la Artrite Reumatoide (Fig. 6).

Infine, giorno dopo giorno, si va scoprendo che moltissime piccole molecole contenute nei cibi, le cosiddette Small Food Molecules (SFM), possono fungere da modulatori epigenetici, soprattutto della metilazione del DNA e questo apre la strada a ciò che oggi va sotto il nome di nutrigenomica, cioè lo studio dell'interazione fra cibo e genoma. L'indicaxantina, pigmento betalainico presente nell'estratto del fico d'india arancione, *Opuntia Ficus indica*, è stato dimostrato, avere, in vitro, effetti epigenetici (Fig. 6) su cellule di carcinoma di colon, riattivando il loro oncosoppressore p16 [2] e contribuendo a far cambiare il loro fenotipo tumorale verso quello di enterocita-like.

Concludendo, senza conoscere queste macchine molecolari, le DNMTs e le loro funzioni, oggi, guardando ad un genoma, si rischierebbe di vederlo con gli occhi di un daltonico, senza le sfumature che ne connoterebbero gli intimi meccanismi.

Senza contare che, sulla base dell'esperienza di Francis Crick, da più di 60 anni, nessuno più si è permesso, in genetica, di enunciare dogmi!



Figura 6.

Bibliografia

- [1] Caradonna F, Barbata G, Sciandrello G: "*Genomewide hypomethylation and PTHrP gene hypermethylation as a model for the prediction of cancer risk in rheumatoid arthritis*". 12th Chapter of: "Novel aspects of PTHrP physiopathology" by Claudio Luparello (Nova Science Publishers, Inc. New York, USA), 2007 4th quarter, ISBN: 978-1-60021-857-6 (2007).
- [2] Naselli F, Tesoriere L, Caradonna F, Bellavia D, Attanzio A, Gentile C, Livrea MA: "*Anti-proliferative and pro-apoptotic activity of whole extract and isolated indicaxanthin from Opuntia ficus-indica associated with re-activation of the onco-suppressor p16(INK4a) gene in human colorectal carcinoma (Caco-2) cells*" (2014) Biochem Biophys Res Commun. 18;450(1):652-8 (2014).